

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE#2
07.10.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 1 0 月 8 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 2 9 4 8 1 5
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 2 - 2 9 4 8 1 5]

出 願 人
Applicant(s): 富澤 一仁
 松井 秀樹
 科学技術振興事業団

REC'D 21 NOV 2003

WIPO

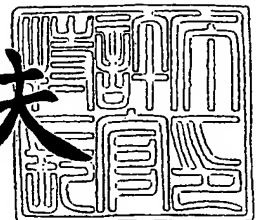
PCT

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 3 年 1 1 月 6 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 9 1 7 0 8

【書類名】 特許願

【整理番号】 JP-13650

【提出日】 平成14年10月 8日

【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿

【国際特許分類】 C07K 2/00
A61K 38/00

【発明者】

【住所又は居所】 岡山市東古松 1 丁目 1 4 - 7 - 6 0 4

【氏名】 富澤 一仁

【発明者】

【住所又は居所】 岡山市東畦 1 3 9 - 1 1 - 5 0 1

【氏名】 松井 秀樹

【特許出願人】

【識別番号】 301027959

【氏名又は名称】 富澤 一仁

【特許出願人】

【識別番号】 500541760

【氏名又は名称】 松井 秀樹

【代理人】

【識別番号】 100065226

【弁理士】

【氏名又は名称】 朝日奈 宗太

【電話番号】 06-6943-8922

【選任した代理人】

【識別番号】 100098257

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐木 啓二

【選任した代理人】

【識別番号】 100117112

【弁理士】

【氏名又は名称】 秋山 文男

【選任した代理人】

【識別番号】 100117123

【弁理士】

【氏名又は名称】 田中 弘

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001627

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0105931

【包括委任状番号】 0206058

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 カルシニューリンの恒常的活性化阻害剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列番号 1 のペプチド、配列番号 2 のペプチドおよび／またはそれらの類似体を含む、カルパインによるカルシニューリン A サブユニットの切断阻害剤。

【請求項 2】 請求項 1 記載のカルシニューリン A サブユニットの切断阻害剤を有効成分とする神経細胞死抑制剤。

【請求項 3】 請求項 1 記載のカルシニューリン A サブユニットの切断阻害剤を有効成分とする痴呆性疾患の進行抑制剤。

【請求項 4】 請求項 1 記載のカルシニューリン A サブユニットの切断阻害剤を含む細胞および脳スライス培養培地の添加剤。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、カルシニューリンの恒常的活性化阻害剤に関する。詳しくは、本発明は、カルパインによるカルシニューリン A サブユニット (CaNA) の切断を阻害する薬剤に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

カルシニューリンは、カルシウムおよびカルモジュリン依存的に活性化される脱リン酸化酵素であり、活性中心を有するカルシニューリン A サブユニット (CaNA) および調節因子であるカルシニューリン B サブユニット (CaNB) からなる複合体である。カルシニューリンは、活性中心と基質との会合を自己阻害ドメインにより阻害しているため、通常細胞内において非活性型である。細胞内のカルシウム濃度が上昇すると、カルシニューリンの構造が変化して自己阻害ドメインが開き (活性型)、基質が活性中心に会合できるようになる。また、カルシウム濃度が減少すると、カルシニューリンは再び非活性型に戻る。このように、カルシニューリンについては従来、カルシウム濃度により可逆的に活性化され

ることが知られている。

【0003】

1999年、カルシニューリンが神経細胞死に重要な役割を担っていることが報告された（非特許文献1参照）。さらに、カルシニューリンの特異的阻害剤（免疫抑制剤FK506およびサイクロスポリンA）が神経細胞死を抑制することも報告されている（非特許文献2および3参照）。これらの文献を含む多くの報告に基づき、脳虚血および脊椎損傷などで認められる神経細胞死に関しては、神経細胞の興奮によってグルタミン酸受容体の1つであるN-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDA受容体）が異常に活性化し、該受容体から細胞内への多量のカルシウムの流入によりカルシニューリンが活性化されて細胞死を誘発するというメカニズムが現在提唱されている。しかしながら、該カルシウムの流入は一過性であり、カルシニューリンの活性化状態は長期間持続しない。したがって、一過性の細胞内カルシウム濃度上昇ではなく、長期にカルシニューリンが活性化されるほかのメカニズムの存在が想像されていたが、そのようなメカニズムに関する報告はなされていない。

【0004】

前述したように、神経細胞死の抑制、具体的には虚血性および興奮性神経細胞死の抑制に対しては、免疫抑制剤FK506およびサイクロスポリンAが効果を有することが知られている。しかしながら、それらの薬剤はカルシニューリンが関与するすべての情報伝達を抑制するために副作用が大きいことが知られている（たとえば腎毒性および糖尿病など）。したがって、長期間のカルシニューリン活性化を阻害し、かつ、従来のものと比較してより副作用の少ない神経細胞死の抑制剤が強く望まれている。

【0005】

【非特許文献1】

アサイ アキオ等、ジャーナル・バイオロジカル・ケミストリー（J. Biological Chemistry）、第274巻、p. 34450、1999年

【非特許文献2】

モリオカ モトヒロ等、プログレス・イン・ニューロバイオロジー（Progress

in Neurobiology)、第58巻、p. 1、1999年

【非特許文献3】

スプリンガー ジョー イー (Springer Joe E) 等、ザ・ジャーナル・オブ・ニューロサイエンス (The Journal of Neuroscience)、第20巻、p. 7246、2000年

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、かかる従来の問題点を解決し、副作用が少なく、様々な疾患に有効な神経細胞死抑制を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】

前記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、以下の知見を得た。

- 1) グルタミン酸投与により神経細胞死を誘導すると、カルシニューリンAサブユニット (CaNA) の断片化が認められた。
- 2) CaNAの切断部位は、アミノ酸配列における392番目 (アルギニン) と393番目 (リジン) との間および421番目と425番目との間であった。
- 3) カルシニューリンが同部位で切断されると、カルシウムおよびカルモジュリン非依存的に活性を有することが明らかになった。
- 4) 前記断片化は、カルシニューリンとは異なる情報伝達経路に属すると考えられていたカルパインにより引き起こされ、カルパイン阻害剤で阻害された。
- 5) CaNAの392～393アミノ酸残基を含むペプチドまたは同421～425アミノ酸残基を含むペプチドを神経細胞内に導入すると、グルタミン酸投与による神経細胞死が抑制された。

【0008】

前記知見に基づき、一過性の細胞内カルシウム濃度上昇によるカルシニューリン活性化ではなく、長期的なカルシニューリン活性化のメカニズムを標的とした細胞死の抑制剤を開発し、本発明を完成した。すなわち本発明は、

(1) 配列番号1のペプチド、配列番号2のペプチドおよび／またはそれらの類似体含有する、カルパインによるCaNAの切断阻害剤、

(2) 前記(1)記載のCaNAの切断阻害剤を有効成分とする神経細胞死抑制剤、

(3) 前記(1)記載のCaNAの切断阻害剤を有効成分とする痴呆性疾患の進行抑制剤、および

(4) 前記(1)記載のCaNAの切断阻害剤を含有する細胞および脳スライス培養培地の添加剤に関する。

【0009】

【発明の実施の形態】

本発明のカルパインによるカルシニューリンAサブユニット(CaNA:配列番号3)の切断阻害剤は、配列番号1のペプチド、配列番号2のペプチドおよび／またはそれらの類似体を含有する化合物であって、カルパインによるCaNAの392～393アミノ酸残基間または同421～425アミノ酸残基間の切断を阻害し、カルシニューリンの恒常的活性化を阻害する物質を意味する。

【0010】

前記配列番号1のペプチドの類似体としては、配列番号1のペプチドのアミノ酸配列において、たとえばその一部が欠失、置換及び／又は他のアミノ酸配列を挿入もしくはペプチドの末端に付加されたアミノ酸配列からなり、かつカルパインによるCaNAの切断を阻害するペプチドが包含される。たとえば、配列番号1のペプチド配列における9番目のアミノ酸残基ArgのLysへの置換および／または10番目のアミノ酸残基LysのArgへの置換は、本発明の配列番号1のペプチドの類似体に含まれる。

【0011】

前記配列番号2のペプチドの類似体としては、配列番号2のペプチドのアミノ酸配列において、たとえばその一部が欠失、置換及び／又は他のアミノ酸配列を挿入もしくはペプチドの末端に付加されたアミノ酸配列からなり、かつカルパインによるCaNAの切断を阻害するペプチドが包含される。たとえば、配列番号2のペプチド配列における11番目のアミノ酸残基LysのArgへの置換は、本発明の配列番号2のペプチドの類似体に含まれる。

【0012】

配列番号1または配列番号2のペプチドの類似体（類似体ペプチド）によるCaNA切断阻害活性は、以下のようにして評価することができる。すなわち、試験溶液（0.1 μ Mまたは10 μ Mの類似体ペプチド、5 μ M 精製カルパイン、20 mM Tris-HCl（pH 7.4）および1 mM CaCl₂）を調製したのち精製カルシニューリン（最終濃度1 μ M）を添加し、30℃で1時間インキュベーションする。ついで、10% SDS-PAGEにより反応液をゲル上で電気泳動し、クマシーブルーにてゲルを染色する。染色の結果、45 kDa および48 kDaの分子量としてみられるカルパイン依存性断片化カルシニューリンを定量することにより、評価することができる。

【0013】

前記ペプチドは、Boc法またはFmoc法による固相または液相合成など、公知の方法を用いて製造することができる。また、そのようにして製造したペプチドを、エーテル沈殿・濾過法、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、パフュージョンクロマトグラフィーなどの公知の方法を用いて精製することもできる。

【0014】

本発明のカルパインによるCaNAの切断阻害剤は、配列番号1のペプチド、配列番号2のペプチドおよび／またはそれらの類似体を含有するものであれば、さらなる化合物を含有してもよい。さらなる化合物としては、たとえば、ポリアルギニンペプチド（たとえば、5個のアルギニンからなるポリアルギニンペプチド）やHIVウイルスのTATタンパク質に含有される11個のアミノ酸残基からなるタンパク質導入ドメイン（PTD；配列番号4））などのように50%以上のアルギニンまたはリジンを含む7～30個で構成される細胞内導入シグナルペプチド、または陽イオン性の水溶性ポリマーである直鎖状ポリエチレンイミン（PEI）などが挙げられる。これらの化合物は、①配列番号1または2のペプチドおよび／またはそれらの類似体に連続して通常のペプチド合成により合成する方法、または②いずれか片方のペプチドに2価性架橋剤を、もう一方のペプチドの末端にはシステイン残基を連結させて、両ペプチドを反応させることに

より結合する方法などを用い、配列番号 1 または 2 のペプチドおよび／またはそれらの類似体に結合（または融合）することができる。また、そのようにして得られた C a N A の切断阻害剤は、前述の精製方法を用いて精製することができる。

【0015】

本発明の神経細胞死抑制剤は、前記カルパインによる C a N A の切断阻害剤を有効成分として含有し、神経細胞における長期間の神経細胞死誘導を抑制する薬剤を意味する。神経細胞死抑制剤は、神経細胞死に関連する疾患の予防ないし治療剤としても使用し得る。本発明の神経細胞死抑制剤は、配列番号 2 のペプチドおよび細胞内導入シグナルペプチドからなる C a N A の切断阻害剤を含有することが好ましく、配列番号 1 のペプチド、配列番号 2 のペプチドおよび細胞内導入シグナルペプチドからなる C a N A の切断阻害剤を含有することがさらに好ましい。前記神経細胞死に関連する疾患の予防ないし治療剤は、神経細胞死に関連する疾患の予防ないし治療のために有効量の神経細胞死抑制剤を含有する医薬を意味する。神経細胞死に関連する疾患としては、たとえばアルツハイマー病、痴呆性疾患、脳虚血性疾患、くも膜下出血などの脳内出血、脊髄損傷、パーキンソン病およびてんかんなどが挙げられる。

【0016】

本発明の神経細胞死抑制剤の投与経路としては、たとえば経口投与、経静脈的投与および脳内直接投与などが挙げられ、患者への負担、副作用の点から、経口投与がより望ましい。

【0017】

本発明の神経細胞死抑制剤の剤形は、投与方法によって適宜設定することができる。具体的には、水溶液、乳剤、懸濁液などの液剤、錠剤およびカプセル剤などが挙げられる。たとえば、経口投与の場合は錠剤またはカプセル剤が好ましく、経静脈的投与あるいは脳内直接投与の場合は液剤が好ましい。本発明の神経細胞死抑制剤の製剤化には、その剤形に合わせて通常当業者により使用される様々な添加物を使用することができる。例えば、酸化防止剤、pH調整剤、防腐剤などが挙げられる。

【0018】

前記神経細胞死抑制剤の投与量は、投与方法、適用する患者の年齢、体重および病状などによって適宜設定することができる。たとえば、前述のカルパインによるCaNAの切断阻害剤に換算して一日に0.1mg/kg以上が好ましく、1mg/kg以上がより好ましい。投与量が0.1mg/kgより少ない場合にはCaNA切断阻害効果が半減する傾向がある。また、投与量は、前述のカルパインによるCaNAの切断阻害剤に換算して一日に100mg/kg以下が好ましく、20mg/kg以下がより好ましい。投与量が100mg/kgを超える場合、細胞毒性を示す傾向がある。本発明の神経細胞死抑制剤の投与は、単回または複数回のどちらで行っても良い。

【0019】

本発明の細胞培養培地または脳スライス培養培地の添加剤は、少なくともCaNAの切断阻害剤を含有する培養培地の添加剤を意味する。本発明の細胞培養培地の添加剤は、配列番号2のペプチドおよび細胞内導入シグナルペプチドからなるCaNAの切断阻害剤を含有することが好ましく、配列番号1のペプチド、配列番号2のペプチドおよび細胞内導入シグナルペプチドからなるCaNAの切断阻害剤を含有することがさらに好ましい。

【0020】

培養細胞に適用する場合、本発明のカルパインによるCaNAの切断阻害剤の添加量としては、細胞濃度 1×10^5 細胞/mlの培養液に0.01~100nmol/mlが好ましく、0.1~10nmol/mlがより好ましい。添加量が0.01nmol/mlより少ない場合、CaNAの切断阻害剤の効果が半減する傾向があり、100nmol/mlより多い場合には細胞毒性を示す傾向がある。

【0021】

以下の実施例に基づいて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれにより何ら制限を受けるものではない。

【0022】

【実施例】

実施例 1

本発明の C a N A の切断阻害剤として F D G A T A A A R K E V I R N K (配列番号 1) および R E E S E S V L T L K G L T P T G (配列番号 2) を培養細胞内に導入するため、以下に示すように N 末端に細胞内導入シグナルペプチド (10 個のアルギニン) を付加したオリゴペプチドを製造した (ペプチド研究所社製)。

R R R R R R R R R R F D G A T A A A R K E V I R N K (配列番号 5)

R R R R R R R R R R R E E S E S V L T L K G L T P T G (配列番号 6)

【0023】

(神経細胞の調製)

ウィスターラット (Wister rat) 胎児 18 日目の脳海馬を摘出後、0.05% トリプシンを含む P B S で 15 分間 37℃ で処理した。ガラスピペットを用いて神経細胞を分散させた後、あらかじめポリ-D-リジンでコーティングした直径 3.5 cm 培養皿に、細胞を 1×10^6 個培養した。培地は、B 27 サプリメント (0.03 ml; インビトロジェン社 (Invitrogen, Inc.) 製)、ペニシリン (最終濃度 100 単位/ml; インビトロジェン社製) およびストレプトマイシン (最終濃度 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$; インビトロジェン社製) を添加した 3 ml N e u r o B a s a l 培地 (インビトロジェン社製) を使用し、炭酸ガスインキュベーター (5% CO₂, 37℃) 中で行った。

【0024】

(ペプチドの添加)

培養開始 10 日後に、培養液中に最終濃度 $1 \mu\text{M}$ で前記配列番号 5 および 6 のペプチドを添加し、炭酸ガスインキュベーター (5% CO₂, 37℃) においてインキュベーションした。添加後 3 時間してから、最終濃度 $500 \mu\text{M}$ のグルタミン酸を添加し、15 分間インキュベーションした。ついで、培養液を交換し、さらに培養した。グルタミン酸添加後 3 時間および 24 時間後、細胞を回収し、1% S D S 溶液で細胞を超音波粉碎し、S D S - P A G E バッファーを加えた。同サンプルを S D S - P A G E ゲル電気泳動後、C a N A を認識する抗体 (ラビット血清、サンタクルーズバイオテクノロジー社 (Santa Cruz Biotechnology, In

c) 製) でウエスタンブロッティングを行った。なお、本実施例においては、グルタミン酸および切断阻害ペプチドを添加しない細胞試料をコントロールとして用いた。また、並行して、グルタミン酸のみを添加した細胞試料および切断阻害ペプチドのみを添加した細胞試料も作製した。

【0025】

結果を図1に示す。図1(a)はグルタミン酸添加ののち3時間インキュベーションした試料、および(b)はグルタミン酸添加ののち24時間インキュベーションした試料の結果である。図1(a)および(b)において、レーン1にはコントロール、レーン2にはグルタミン酸のみを添加した試料、レーン3には切断阻害ペプチドのみを添加した試料、ならびにレーン4にはグルタミン酸および切断阻害ペプチドを添加した試料を用いた。グルタミン酸添加群では、カルシニューリンの断片化が認められた。一方、切断阻害ペプチドを導入した神経細胞では、グルタミン酸添加により起こる切断型カルシニューリンの発現が阻害された。

【0026】

実施例2

実施例1と同様に神経細胞を培養し、ついで実施例1と同様に神経細胞に最終濃度1 μ Mになるように前述の配列番号5および6のペプチドを添加した。コントロールとして、カルシニューリン阻害剤のFK506(フジサワ製薬株式会社; 最終濃度1 μ M)またはカルパイン阻害剤のALLM(メルク社; 最終濃度25 μ M)を加えた。それぞれの薬剤を2時間インキュベーションした後、最終濃度500 μ Mのグルタミン酸を添加し、15分間インキュベーションした。ついで、培養液を交換し、さらに培養した。添加後3時間、6時間、12時間または24時間後、それぞれの神経細胞は4%パラフォルムアルデヒドで固定した。その後、細胞死を起こした神経細胞を同定するために、TUNEL染色(ロッシュ・ダイアグノスティクス社(Roche Diagnostics, Inc)製)を行った。TUNEL陽性細胞をカウントした。

【0027】

結果を図2に示す。グルタミン酸投与群では、投与後時間経過と共に細胞死を

起こしている神経細胞の数が上昇した。切断阻害ペプチドはグルタミン酸で誘導される神経細胞死を抑制する効果があることが判明した。また、その効果は、FK506、ALLMと同程度の効果であった。

【0028】

参考例 1

牛脳より精製したカルシニューリン $1\mu\text{M}$ を $1\mu\text{M}$ カルモジュリン (メルク社 (Merck, Inc) 製) および/または $1\mu\text{M}$ m-カルpain (メルク社製) と反応液中 ($20\mu\text{M}$ Tris-HCl、pH 7.4、 1mM CaCl_2 、 1mM MgCl_2 を含む) で 30°C 、1時間それぞれ反応させ、その後 12% SDS-PAGE ゲルに電気泳動後、クマシーブルーにて同ゲルを染色した。

【0029】

その結果、カルpain を添加していない場合、精製 CaNA は、電気泳動上 60Kda の大きさにみられた。これは、これまで報告されている CaNA の大きさに一致するものである。一方、カルモジュリンとカルpain とを添加した場合、 60Kda にバンドは認められず、 48 および 45Kda にバンドが認められた。カルpain のみと反応させると、 45Kda の大きさに切断された CaNA が認められた。

【0030】

前記結果より、カルシニューリンがカルpain により切断されることは明らかである。

【0031】

さらに、カルpain による CaNA の切断部位を決定したところ、 45Kda 切断蛋白は、アミノ酸配列 392 番までのアミノ酸で構成され、 48Kda の切断蛋白は、421 番まで、422 番まで、423 番まで、および 424 番までのアミノ酸で構成されていた。

【0032】

【発明の効果】

本発明は CaNA の切断阻害剤を提供した。本発明の CaNA の切断阻害剤は、カルシニューリンの不可逆的な活性化を阻害することができるため、該活性化

により誘発される神経細胞死を抑制することができる。また、C a N A の切断阻害剤を含有する本発明の神経細胞死抑制剤は、痴呆性疾患など神経細胞死に関連する疾患の予防ないし治療薬として使用することができるため、極めて有用である。さらに、C a N A の切断阻害剤を含有する本発明の培養細胞培地の添加剤を用いれば、培養細胞の生育をよくすることもできる。また、本発明の C a N A の切断阻害剤は、神経細胞死に関する研究用試薬としても使用することができる。

【0033】

【配列表フリーテキスト】

配列番号5：ヒト由来のペプチド配列と人工的なペプチド配列とからなるペプチド配列

配列番号6：ヒト由来のペプチド配列と人工的なペプチド配列とからなるペプチド配列

【0034】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Tomizawa, Kazuhito

Matsui, Hideki

<120> Inhibitor of constitutive active forming of carcineurin

<130> JP-13650

<160> 6

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> human

<400> 1

Phe Asp Gly Ala Thr Ala Ala Ala Arg Lys Glu Val Ile Arg Asn Lys
1 5 10 15

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> human

<400> 2

Arg Glu Glu Ser Glu Ser Val Leu Thr Leu Lys Gly Leu Thr Pro Thr
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 521

<212> PRT

<213> human

<400> 3

Met Ser Glu Pro Lys Ala Ile Asp Pro Lys Leu Ser Thr Thr Asp Arg
1 5 10 15

Val Val Lys Ala Val Pro Phe Pro Pro Ser His Arg Leu Thr Ala Lys
20 25 30

Glu Val Phe Asp Asn Asp Gly Lys Pro Arg Val Asp Ile Leu Lys Ala

35

40

45

His Leu Met Lys Glu Gly Arg Leu Glu Glu Ser Val Ala Leu Arg Ile

50

55

60

Ile Thr Glu Gly Ala Ser Ile Leu Arg Gln Glu Lys Asn Leu Leu Asp

65

70

75

80

Ile Asp Ala Pro Val Thr Val Cys Gly Asp Ile His Gly Gln Phe Phe

85

90

95

Asp Leu Met Lys Leu Phe Glu Val Gly Gly Ser Pro Ala Asn Thr Arg

100

105

110

Tyr Leu Phe Leu Gly Asp Tyr Val Asp Arg Gly Tyr Phe Ser Ile Glu

115

120

125

Cys Val Leu Tyr Leu Trp Ala Leu Lys Ile Leu Tyr Pro Lys Thr Leu

130

135

140

Phe Leu Leu Arg Gly Asn His Glu Cys Arg His Leu Thr Glu Tyr Phe

145

150

155

160

Thr Phe Lys Gln Glu Cys Lys Ile Lys Tyr Ser Glu Arg Val Tyr Asp

165

170

175

Ala Cys Met Asp Ala Phe Asp Cys Leu Pro Leu Ala Ala Leu Met Asn

180

185

190

Gln Gln Phe Leu Cys Val His Gly Gly Leu Ser Pro Glu Ile Asn Thr
195 200 205

Leu Asp Asp Ile Arg Lys Leu Asp Arg Phe Lys Glu Pro Pro Ala Tyr
210 215 220

Gly Pro Met Cys Asp Ile Leu Trp Ser Asp Pro Leu Glu Asp Phe Gly
225 230 235 240

Asn Glu Lys Thr Gln Glu His Phe Thr His Asn Thr Val Arg Gly Cys
245 250 255

Ser Tyr Phe Tyr Ser Tyr Pro Ala Val Cys Asp Phe Leu Gln His Asn
260 265 270

Asn Leu Leu Ser Ile Leu Arg Ala His Glu Ala Gln Asp Ala Gly Tyr
275 280 285

Arg Met Tyr Arg Lys Ser Gln Thr Thr Gly Phe Pro Ser Leu Ile Thr
290 295 300

Ile Phe Ser Ala Pro Asn Tyr Leu Asp Val Tyr Asn Asn Lys Ala Ala
305 310 315 320

Val Leu Lys Tyr Glu Asn Asn Val Met Asn Ile Arg Gln Phe Asn Cys
325 330 335

Ser Pro His Pro Tyr Trp Leu Pro Asn Phe Met Asp Val Phe Thr Trp
340 345 350

Ser Leu Pro Phe Val Gly Glu Lys Val Thr Glu Met Leu Val Asn Val
355 360 365

Leu Asn Ile Cys Ser Asp Asp Glu Leu Gly Ser Glu Glu Asp Gly Phe
370 375 380

Asp Gly Ala Thr Ala Ala Ala Arg Lys Glu Val Ile Arg Asn Lys Ile
385 390 395 400

Arg Ala Ile Gly Lys Met Ala Arg Val Phe Ser Val Leu Arg Glu Glu
405 410 415

Ser Glu Ser Val Leu Thr Leu Lys Gly Leu Thr Pro Thr Gly Met Leu
420 425 430

Pro Ser Gly Val Leu Ser Gly Gly Lys Gln Thr Leu Gln Ser Ala Thr
435 440 445

Val Glu Ala Ile Glu Ala Asp Glu Ala Ile Lys Gly Phe Ser Pro Gln
450 455 460

His Lys Ile Thr Ser Phe Glu Glu Ala Lys Gly Leu Asp Arg Ile Asn
465 470 475 480

Glu Arg Met Pro Pro Arg Arg Asp Ala Met Pro Ser Asp Ala Asn Leu
485 490 495

Asn Ser Ile Asn Lys Ala Leu Ala Ser Glu Thr Asn Gly Thr Asp Ser

500

505

510

Asn Gly Ser Asn Ser Ser Asn Ile Gln

515

520

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> HIV virus

<400> 4

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1

5

10

<210> 5

<211> 26

<212> PRT

<213> human

<400> 5

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Phe Asp Gly Ala Thr Ala

1

5

10

15

Ala Ala Arg Lys Glu Val Ile Arg Asn Lys

20

25

<210> 6

<211> 27

<212> PRT

<213> human

<400> 6

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Ser Glu Ser

1

5

10

15

Val Leu Thr Leu Lys Gly Leu Thr Pro Thr Gly

20

25

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 は、グルタミン酸添加による神経細胞死誘導時の C a N A の切断、および本発明の C a N A の阻害剤による C a N A 切断の抑制効果を示す図である。

【図 2】

図 2 は、グルタミン酸添加により神経細胞死を誘導された神経細胞の数を示す図である。

【書類名】

図面

【図 1】

(a)



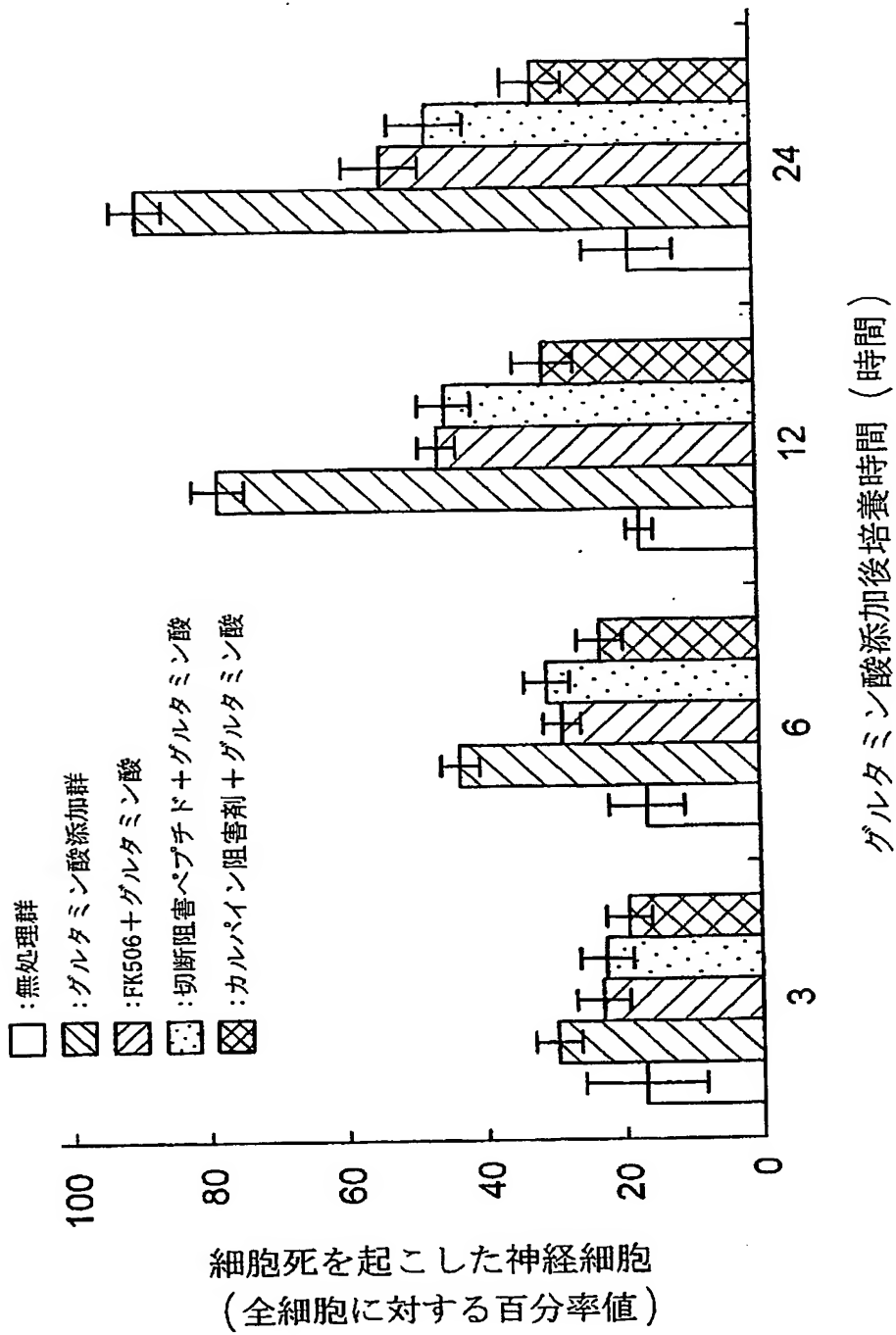
切断型CaNA { \longleftrightarrow }

(b)



切断型CaNA { \longleftrightarrow }

【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、恒常的なカルシニューリンの活性化を阻害し、副作用が少なく、様々な疾患に有効な神経細胞死抑制を提供することを目的とする。

【解決手段】 カルシニューリンの恒常的活性化阻害剤、詳しくは、カルパインによるカルシニューリンAサブユニット（CaNA）の切断を阻害する薬剤。たとえば、FDGATAAARKEVIRNK（配列番号1）およびREESSESVLTCLKGLTPTG（配列番号2）のアミノ酸配列を有するペプチドが挙げられる。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届

【整理番号】 JP-13650

【提出日】 平成14年10月30日

【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿

【事件の表示】

 【出願番号】 特願2002-294815

【承継人】

 【持分】 090/100

 【識別番号】 396020800

 【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【承継人代理人】

 【識別番号】 100065226

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 朝日奈 宗太

 【電話番号】 06-6943-8922

【承継人代理人】

 【識別番号】 100098257

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 佐木 啓二

【承継人代理人】

 【識別番号】 100117112

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 秋山 文男

【承継人代理人】

 【識別番号】 100117123

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 田中 弘

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001627

【納付金額】 4,200円

【提出物件の目録】

【包括委任状番号】 0203122

【プルーフの要否】 要

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-294815
受付番号	50201642136
書類名	出願人名義変更届
担当官	鈴木 夏生 6890
作成日	平成14年12月13日

<認定情報・付加情報>

【承継人】

【識別番号】 396020800

【住所又は居所】 埼玉県川口市本町4丁目1番8号

【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【承継人代理人】 申請人

【識別番号】 100065226

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区谷町2丁目2番22号 NS
ビル 朝日奈特許事務所

【氏名又は名称】 朝日奈 宗太

【承継人代理人】

【識別番号】 100098257

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区谷町2-2-22 NSビル
7階 朝日奈特許事務所

【氏名又は名称】 佐木 啓二

【承継人代理人】

【識別番号】 100117112

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区谷町二丁目2番22号 NS
ビル朝日奈特許事務所

【氏名又は名称】 秋山 文男

【承継人代理人】

【識別番号】 100117123

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区谷町二丁目2番22号 NS
ビル朝日奈特許事務所

【氏名又は名称】 田中 弘

次頁無

願 2 0 0 2 - 2 9 4 8 1 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[3 0 1 0 2 7 9 5 9]

1. 変更年月日
[変更理由]
住 所
氏 名

2 0 0 1 年 4 月 2 0 日
新規登録
岡山県岡山市東古松一丁目 1 4 - 7 - 6 0 4
富澤 一仁

願 2002-294815

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[500541760]

1. 変更年月日

2000年11月24日

[変更理由]

新規登録

住 所

岡山県岡山市東畦139-11-501

氏 名

松井 秀樹

額 2 0 0 2 - 2 9 4 8 1 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[3 9 6 0 2 0 8 0 0]

1. 変 更 年 月 日

1 9 9 8 年 2 月 2 4 日

[変 更 理 由]

名 称 変 更

住 所

埼 玉 県 川 口 市 本 町 4 丁 目 1 番 8 号

氏 名

科 学 技 術 振 興 事 業 団

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.